20942

WORLD HEALTH ORGANIZATION

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE

DISTR.: LIMITED
DISTR.: LIMITEE

WHO/Rab.Res./88.27

ORIGINAL: ANGLAIS

TECHNIQUE SIMPLIFIEE DE PRELEVEMENT, DE CONDITIONNEMENT ET D'EXPEDITION DE MATIERE CEREBRALE POUR LE DIAGNOSTIC DE RAGE[1]

Ce document décrit le mode d'emploi d'un nécessaire destiné au recueil, à la conservation et à l'expédition, dans des conditions simples et pratiques, de prélèvements cérébraux destinés au diagnostic de la rage. Les prélèvements recueillis au moyen de ce nécessaire permettront aux laboratoires d'effectuer les épreuves de diagnostic de la rage par les techniques usuelles.

Jusqu'à présent, ce nécessaire a été produit en petites quantités et à titre expérimental par le Centre collaborateur OMS pour la recherche et gestion en matière de lutte contre les zoonoses, Centre national d'Etudes sur la Rage et la Pathologie des animaux sauvages, Malzéville, France.

Le Centre collaborateur de l'OMS (voir adresse ci-dessous) apprécierait de recevoir une confirmation de votre intérêt pour ce nécessaire, avec une estimation de vos besoins. Cette information aidera à définir la nécessité d'une production à grande échelle.

Ce document s'adresse au personnel des laboratoires de diagnostic de la rage et des services sanitaires et vétérinaires chargés du recueil des échantillons sur le terrain.

Des exemplaires supplémentaires peuvent être obtenus sur demande écrite adressée au Chef du Service de Santé publique vétérinaire, Division des Maladies transmissibles, Organisation mondiale de la Santé, 1211 Genève 27, Suisse.

BIBLIOTHÈQUE OMS
18 JUIL. 1988
WHO LIBRARY

[1] Par Barrat, J. et Blancou, J., Centre collaborateur OMS pour la recherche et gestion en matière de lutte contre les zoonoses, Centre National d'Etudes sur la Rage et la Pathologie des animaux sauvages, B.P. No.9, F-54220 Malzéville, France

This document is not issued to the general public, and all rights are reserved by the World Health Organization (WHO). The document may not be reviewed, abstracted, quoted, reproduced or translated, in part or in whole, without the prior written permission of WHO. No part of this document may be stored in a retrieval system or transmitted in any form or by any means - electronic, mechanical or other without the prior written permission of WHO.

The views expressed in documents by named authors are solely the responsibility of those authors.

Ce document n'est pas destiné à être distribué au grand public et tous les droits y afférents sont réservés par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS). Il ne peut être commenté, résumé, cité, reproduit ou traduit, partiellement ou en totalité, sans une autorisation préalable écrite de l'OMS. Aucune partie ne doit être chargée dans un système de recherche documentaire ou diffusée sous quelque forme ou par quelque moyen que ce soit - électronique, mécanique, ou autre - sans une autorisation préalable écrite de l'OMS.

Les opinions exprimées dans les documents par des auteurs cités nommément n'engagent que lesdits auteurs.

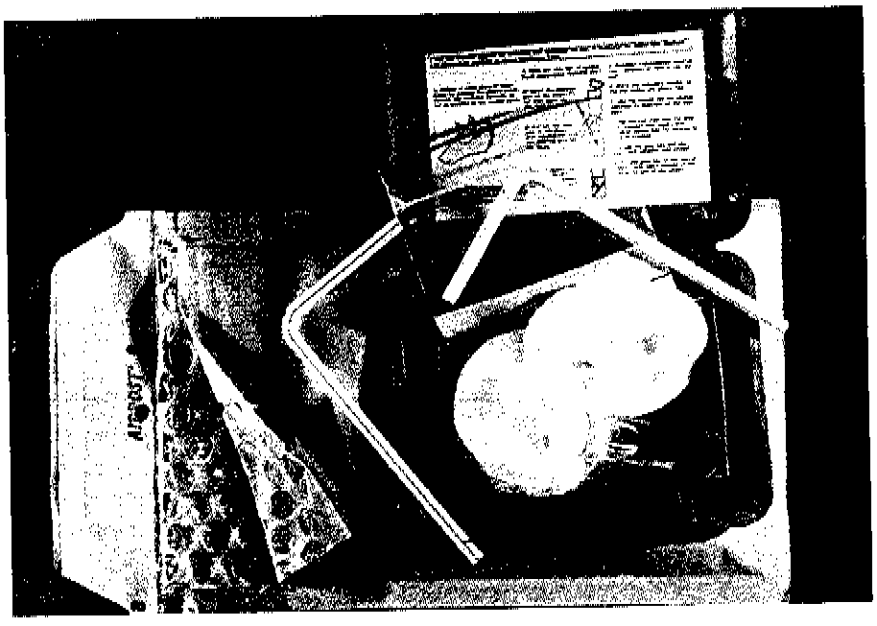

Figure 1

1. LE NECESSAIRE

Il contient (voir figure 1):

- 2 pailles pour la collecte des prélèvements;

- 2 tubes (munis de bouchons de plastique) contenant la solution de conservation;

- des tampons de cellulose capable d'absorber la totalité du liquide en cas de rupture accidentelle des tubes;

- un sac de plastique pouvant être fermé hermétiquement, destiné à contenir les tubes et la cellulose;

- une boîte de plastique munie d'un système de fermeture à tenons recouverts de papier adhésif afin d'éviter toute ré-ouverture accidentelle;

- une enveloppe matelassée (c'est-à-dire garnie intérieurement d'une couche plastifiée contenant des bulles d'air);

- un modèle de formulaire d'envoi à adapter aux conditions locales (voir Annexe IV).

Le prix de revient du nécessaire est donné, à titre indicatif, en Annexe III.

De manière à poser un diagnostic sûr, les étapes suivantes doivent être scrupuleusement respectées lors de l'utilisation de ce nécessaire.

2. REALISATION DU PRELEVEMENT

Il a été démontré[1] que les résultats des méthodes de diagnostic de la rage réalisées sur un cylindre de matière cérébrale prélevé par le trou occipital concordaient avec ceux obtenus à partir de la corne d'Ammon, obtenue après ouverture de la boîte crânienne et dissection de l'encéphale (voir Annexe II).

---

[1] Barrat, J. et Halek, H.: Simplified and adequate sampling and preservation techniques for rabies diagnosis in Mediterranean countries. In: Comp. Immun. Microb. Inf. Dis. (1986), 9, (1).

Le prélèvement de ce cylindre doit être réalisé de la façon suivante:

(a) Accès à la boîte crânienne:[1]

- si le cadavre de l'animal suspect est entier, recourber la tête vers le bas et inciser transversalement les muscles cervicaux jusqu'aux vertèbres, en arrière de la protubérance occipitale externe (voir figure 2).

Figure 2

Tout en laissant le tête du chien dans cette position, ouvrir l'articulation atlanto-occipitale en incisant la membrane atlanto-occipitale dorsale puis les méninges.

- si la tête a déjà été séparée du corps, le prélèvement est exécuté dans les mêmes conditions par le trou occipital dégagé lors de la décapitation.

(b) Prélèvements:

Le prélèvement est réalisé en introduisant avec une légère rotation la paille par le trou occipital, en direction d'un des yeux (voir figure 3).

---

[1] Attention: toute manipulation d'un cadavre suspect de rage se fera avec des gants à usage unique, et si possible des lunettes et un masque. Le personnel sera de préférence vacciné contre la rage. En cas de contaminations accidentelles (projection de matière cérébrale ou salive dans l'oeil, ou contact de ces matières potentiellement virulentes avec les lésions cutanées même superficielles) consultez un centre de traitement antirabique.

Figure 3

Sous cette incidence, le cylindre de matière cérébrale intéresse le bulbe rachidien, la base du cervelet, la région de la corne d'Ammon puis le cortex cérébral (voir figure 4).

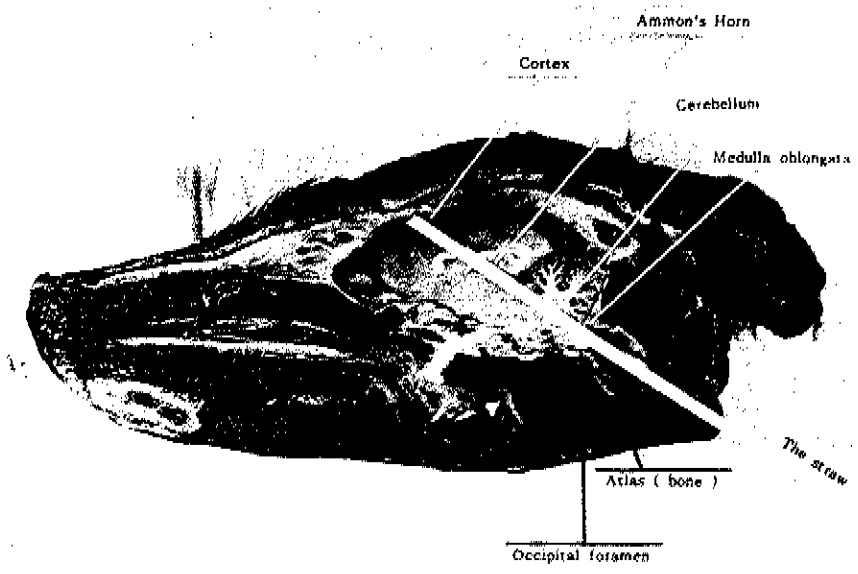

Figure 4

Le cylindre de matière cérébrale s'engage tout seul dans la paille: il est inutile d'aspirer à l'aide d'une appareil (qui serait contaminé) ni, bien entendu, à la bouche.

3. CONDITIONNEMENT

(a) Une fois le prélèvement réalisé, la paille contenant le cylindre de tissue nerveux est retirée de la cavité cérébrale.

Un tube renfermant la solution de conservation[1] est ouvert à l'extrêmité de la paille qui est coupée au-dessus du tube. La longueur du segment de paille doit être telle que le bouchon puisse être repoussé à fond (voir figure 5). La composition du liquide de conservation est donnée au bas de la page.

Figure 5

[1] Solution "Nancy 871" à base de glycérine et autres produits chimiques dont l'efficacité contre les contaminations bactériennes et l'innocuité vis-à-vis du virus de la rage ont été préalablement testés au laboratoire. Le liquide est constitué, pour 1000 ml, de 500 ml de glycérine pure (prolabo normapur ND), de 100 mg de Merthiolate (Thiomersal ou Thimerosal ou Ethyl mercurithiobenzoate de sodium) et d'eau bidistillée pH7, qsp 1000 ml. Cette composition pourrait évoluer en fonction des résultats des études complémentaires en cours. Si la préparation de ce liquide est envisagée localement, le laboratoire producteur doit s'assurer de la qualité des produits utilisés, en particulier de la glycérine pure.

Il est très important que le cylindre de tissu cérébral soit laissé dans le paille pour s'assurer de la sensibilité des méthodes de diagnostic utilisables ultérieurement (voir Annexe I).

(b) Le tube dans lequel se trouve le morceau de paille rempli de matière cérébrale est alors refermé hermétiquement (voir figure 6). Pour plus de sécurité, le bouchon est entouré de ruban adhésif.

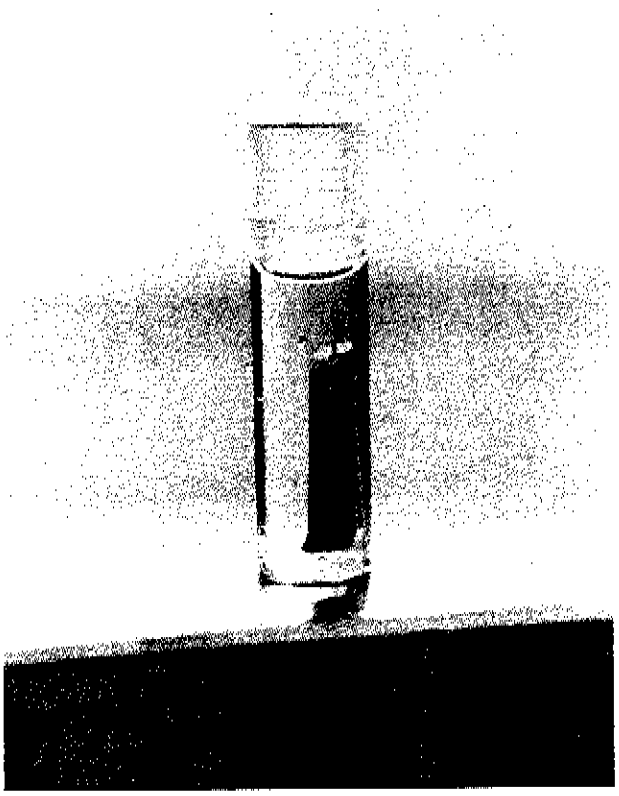

Figure 6

Le numéro de référence du prélèvement est reporté sur le tube.

Le second tube peut être utilisé, de la même façon, pour réaliser soit un second prélèvement sur le même animal, soit un prélèvement à partir d'un autre animal.

4. EXPEDITION

(a) Les tubes sont enveloppés dans des tampons de cellulose placés en quantité telle qu'ils puissent absorber la totalité du liquide conservateur, en case de rupture accidentelle des deux tubes.

(b) Les tubes contenant les prélèvements enveloppés dans la cellulose et étiquetés, sont placés dans le sachet plastique sur lequel sont portés le ou les numéros de référence.

(c) Le sachet plastique est alors placé dans la boîte de plastique grise. Cette dernière est refermée, et le système de fermeture recouverte par des morceaux de ruban adhésif pour éviter toute ré-ouverture accidentelle.

(d) La boîte grise est ensuite placée dans une enveloppe spéciale, matelassée (c'est-à-dire garnie intérieurement d'une seconde enveloppe plastique contenant des bulles d'air) destinée à protéger le nécessaire d'éventuels chocs en cours de transport (voir figure 7).

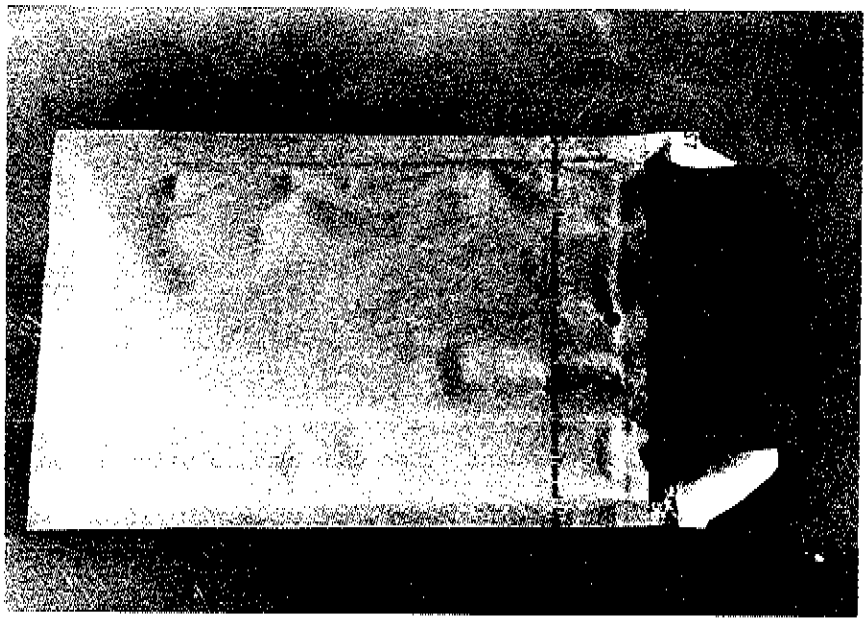

Figure 7

Cette enveloppe peut être acheminée par les services postaux ordinaires, à moins que la réglementation nationale ne s'y oppose.

(e) Les commémoratifs complets correspondant au (ou aux) prélèvement(s) sont inscrits sur un formulaire d'envoi (voir Annexe IV) placé dans l'enveloppe. Une copie des commémoratifs peut être envoyée séparément au laboratoire. Le nécessaire est expedié au laboratoire de diagnostic par les voies les plus rapides (ex.: poste aérienne). En cas d'attente, le nécessaire dans son enveloppe fermée doit être conservé à + 4°C.

(f) Tout le matériel ayant servi au prélèvement, ou ayant été en contact possible avec des matières virulentes est désinfecté (autoclave ou ammonium IV à 5 p. 100) ou détruit par incinération.

ANNEXE I

METHODES DE DIAGNOSTIC UTILISABLES SUR LE PRELEVEMENT CONTENU DANS LE NECESSAIRE

Dans un premier temps, le cylindre de matière cérébrale est retiré du morceau de paille à l'aide de pinces et d'une tige de verre utilisée comme piston (voir figure 8).

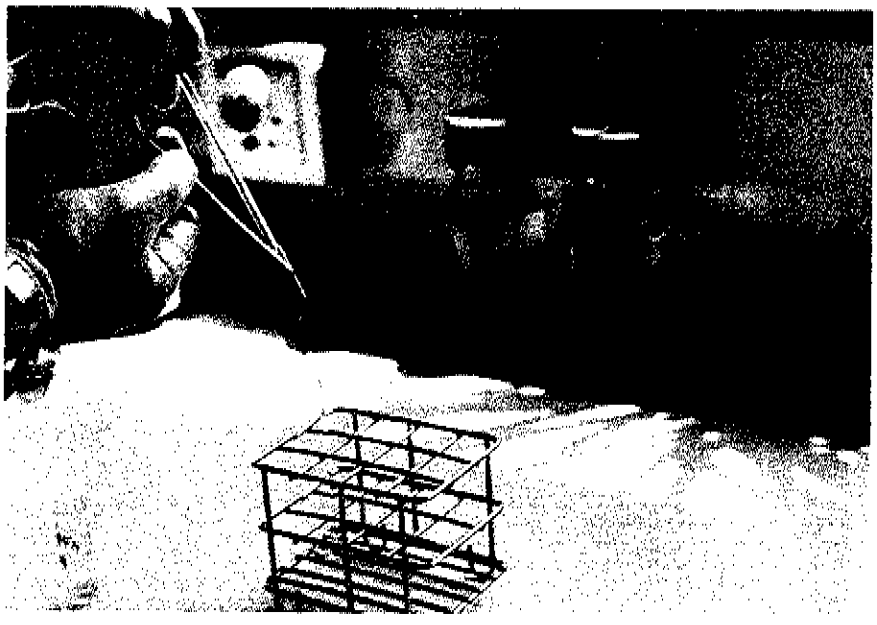

Figure 8

Le prélèvement est ensuite lavé pendant 10 mn dans une solution tamponnée (ex.: PBS) pour éliminer la glycérine.

Trois techniques sont ensuite applicables sur le fragment de matière cérébrale ainsi recueilli et lavé:

(a) Réalisation des calques pour le test d'immunofluorescence directe

L'échantillon est posé sur un abaisse-langue et "essuyé" avec un second abaisse-langue de bois.

Les empreintes sont alors réalisées. La coloration suit le schéma classique.[1]

(b) Broyat pour inoculation à des cellules (neuroblastome murine N2A) ou à des souris.

Après réalisation des calques, l'échantillon est broyé:

- à 50% (vol./vol.) dans du sérum de veau nouveau-né pour l'inoculation de Neuroblastomes N2A,[2]

---

[1] Kaplan, M.M. & Koprowski, H., ed. La rage: technique de laboratoire. 3e ed. (Publication No. 23), OMS, Genève (1973).

[2] Portnoi, D., Favre, S. & Sureau, P.: Use of neuroblastoma cells (MNB) for the isolation of street rabies virus from field specimens in: Rabies Information Exchange Memorandum, Centres for Disease Control, Atlanta, USA (1982), 35-36.

Annexe I

OU

- à 10% (poids/vol.) dans une solution de Hanks additionnée d'antibiotiques pour l'inoculer à des souris selon la méthode classique.[1]

(c) Prélèvement d'un petit fragment de matière cérébrale pour la réalisation d'un test immuno-enzymatique "Rapid Rabies Enzyme Immuno Diagnostic".[2]

---

[1] Kaplan, M.M. & Koprowski, H., ed. La rage: technique de laboratoire. 3e ed. (Publication No. 23), OMS, Genève (1973)

[2] Perrin, P., Rollin, P.E. et Sureau, P.: A rapid rabies enzyme immuno-diagnosis (RREID): a useful and simple technique for the routine diagnosis of rabies. In: J. biol. stand (1986), 14, 217-222.

ANNEXE II

DUREE DE CONSERVATION DU PRELEVEMENT DANS LE NECESSAIRE

La conservation de la matière cérébrale dans la paille, est bien meilleure que celle observée lors de l'envoi de la corne d'Ammon placée dans de la glycérine à 50 p. 100.

Sur 130 analyses (immunofluorescence ou culture de neuroblastomes) réalisées après conservation du prélèvement de matière cérébrale contenu dans le fragment de paille pendant huit jours, soit à 20°C soit à 37°C, les résultats de diagnostic ont été concordants, dans 100% des cas, avec celui réalisé sur la corne d'Ammon fraîche prélevée après ouverture complète de la boîte crânienne du même animal. En revanche, lors de conservation d'un fragment de corne d'Ammon dans la glycérine à 50%, sans autre protection, et en particulier sans la protection conférée par la paille, 18% des examens positifs sur un prélèvement frais se sont avérés négatifs après 8 jours de conservation à 37°C.

ANNEXE III

PRIX DE REVIENT DE 100 NECESSAIRES COMPLETS D'EXPEDITION

100 boîtes	345 FF
100 pochettes enveloppes	97 FF
200 sachets plastiques	97 FF
200 tubes plastiques	98 FF
200 pailles	36 FF
Le liquide "Nancy 871" 100 nécessaires	100 FF
Total pour 100 nécessaires:	703 FF

Soit au total 703 FF pour 100 nécessaires ou 7 FF par nécessaire

(approximativement US$ 1.30).

ANNEXE IV

FORMULAIRE D'ENVOI

PRELEVEMENTS DE TISSUE NERVEUX POUR LE DIAGNOSTIC DE LA RAGE

Nom de la personne ayant réalisé le prélèvement: . . . . . .

Institut ou service: . . . . . .

Localité: . . . . . Province: . . . . . .

Numéro de formulaire: . . . . . Date: . . . . . .

Information	Tube No. 1 Reference	Tube No. 2 Reference
Espèce animale		
Date à laquelle l'animal est mort ou Date à laquelle il a été tué		
Principaux symptômes observés avant la mort		
Endroit d'où provient l'animal		
Nom du propriétaire		
Personne(s) exposée(s) (oui ou non)		
Autre(s) animal(aux) exposé(s) (oui ou non)		
Date de réalisation du prélèvement		
Endroit où le prélèvement a été fait		
Date d'envoi		
Conditions de stockage (si l'envoir ne suit pas immédiatement le prélèvement)		
Autres information(s)		